M. Schneider

1971

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie
der Universität des Saarlandes
Direktor: Prof.Dr.med.W.RUMMEL

Die Pharmakokinetik von Digitoxin und Ouabain am isolierten, schlagenden Herzen des Meerschweinchens und der Ratte

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Monika Schneider
geb. am 17. April 1944 in Bromberg

Dekan: Prof.Dr.med.H.KULENKAMPFF

Referent: Prof.Dr.med.K.PFLEGER

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promotionsdatum 19. Juli 1971

Die Pharmakokinetik von Digitoxin und Ouabain am isolierten, schlagenden Herzen des Meerschweinchens und der Ratte.

Herzglykoside werden seit WITHERING in der Therapie erfolgreich angewandt. Trotz einer Vielzahl von Untersuchungen, die im Laufe der beiden letzten Jahrzehnte durchgeführt wurden (4,5,6,8,1o,19,2o,22,23,24),ist der der therapeutischen Wirkung zugrunde liegende Mechanismus bis heute noch weitgehend unbekannt.

Es lag nahe, die Verteilung der Herzglykoside in das Herzgewebe zu untersuchen und den Gehalt mit der pharmakologischen Wirkung, also der positiv inotropen Wirkung zu korrelieren. LÜLLMANN (12) und VAN ZWIETEN studierten die Aufnahme und Abgabe von Herzglykosiden an isolierten Vorhofstreifen und kamen dabei zu dem Schluß, daß die Aufnahme sich durch eine einfache e-Funktion

$$Y = A \left(1 - e^{-kt} \right)$$

Y = Aufnahme zur Zeit t
A = Aufnahme in der Sättigung
k = Aufnahmekonstante

beschreiben läßt. Die Einzelwerte sind in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben (17):

Table 1. *Rate constants* (k), *the half lives* ($t_{\frac{1}{2}}$) *and also the* T/M *ratios obtained for therapeutic medium concentrations of the glycosides and the algycone*

Drug	Medium concn (g/ml)	Positive inotropic action (%)	Rate constant k s^{-1} ($\times 10^{-4}$)	$t_{\frac{1}{2}}$ min	T/M
[^{3}H]Ouabain	5×10^{-7}	132	31·0	3·7	0·6
[^{3}H]Digoxin	$2{\cdot}5 \times 10^{-7}$	100	5·0	23·1	2·8
[^{3}H]Peruvoside	$2{\cdot}5 \times 10^{-7}$	120	5·2	22·2	3·2
[^{3}H]Digitoxin	1×10^{-7}	90	14·0	8·3	9·3
[^{3}H]Digitoxigenin	1×10^{-7}	150	5·7	20·0	8·0

Die Werte für die Aufnahme entsprechen in etwa der klinischen Erfahrung, daß die Wirkung von Ouabain schneller einsetzt als die von Digitoxin: t/2 für die Aufnahme von Ouabain 3,7 Minuten, für die von Digitoxin 8,3 Minuten. Die Kinetik der Abgabe verläuft jedoch nicht im Sinn der theoretischen Erwartung, wie man sie nach der Aufnahme hätte postulieren können. So finden LÜLLMANN und VAN ZWIETEN (17) nach 12o Minuten Inkubation in glykosidfreiem Medium noch mehr als 2o% des aufgenommenen Ouabains und mehr als 4o% des aufgenommenen Digitoxins im Vorhofstreifen wieder, während die positiv inotrope Wirkung bereits nach 1o Minuten zur Hälfte abgeklungen ist. Diese Tatsache könnte zwar der Ausdruck einer irreversiblen Bindung von Herzglykosiden an spezifische Bindungsstellen sein. Eine irreversible Bindung wurde aber bisher nur von HOKIN (9)

mit Bromacetyl-Ouabain nachgewiesen, das in der Therapie nicht verwendet wird, wobei die Bromacetylgruppe direkt mit der Umgebung des Rezeptors reagierte.
Diese Untersuchungen gaben zu der Frage Anlaß, ob sich Aufnahme- und Abgabekinetik auch am perfundierten Herzmuskel unterscheiden, bei dem wahrscheinlich eher den physiologischen Bedingungen entsprechende Diffusionsverhältnisse herrschen.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Aufnahme und Abgabe von Digitoxin und Ouabain am perfundierten, spontanschlagenden Meerschweinchen- und Rattenherz untersucht. Die Ratte wurde deshalb in die Untersuchungen mit einbezogen, weil den Pharmakologen seit langem bekannt ist, daß die Ratte gegenüber Herzglykosiden mehr als 1oomal weniger empfindlich ist als das Meerschweinchen und daß am Rattenherz keine positiv inotrope Wirkung erzielt werden kann (Von GREEFF (3) ist nachgewiesen worden, daß zur Hemmung der aus Rattenherzen gewonnenen ATPase sehr viel höhere Herzglykosidkonzentrationen notwendig sind als für ähnliche Versuche an Meerschweinchen und Kaninchen.).
Falls die unterschiedliche Empfindlichkeit beider Spezies darauf beruht, daß die Bindungsfähigkeit unterschiedlich ist oder daß für den inotropen Effekt maßgebende Kompartimente unterschiedlich gut erreicht werden, darf man erwarten, daß das auch kennzeichnendermaßen in einer unterschiedlichen Kinetik zum Ausdruck kommt. Und zwar sollte sich dies durch eine im Vergleich zum Meerschweinchenherzen verminderte Aufnahmerate beim Rattenherzen zeigen.

METHODIK

Die Versuche wurden an isolierten, spontanschlagenden Herzen von Meerschweinchen und Ratten durchgeführt. Die 2oo - 3oo g schweren Ratten und 3oo - 4oo g schweren Meerschweinchen beiderlei Geschlechts wurden durch Genickschlag getötet, die Herzen nach der LANGENDORFF - Technik (13) präpariert und mit einer Perfusionslösung folgender Zusammensetzung perfundiert:
Na^+ 143 mM; K^+ 5,o mM; Mg^{++} 1,2 mM; Ca^{++} 2,5 mM; Cl^- 139 mM; HCO_3^- 25 mM; $H_2PO_4^-$ 1,2 mM und Glucose 11,1 mM.
Die Perfusionslösung wurde vor Versuchsbeginn mindestens 2o Minuten mit Carbogen (5% CO_2 + 95% O_2) durchströmt; dabei stellte sich ein pH-Wert von 7,4 ein. Die Perfusionslösung hatte eine Temperatur von 37° Celsius. Um gleiche Ausgangsbedingungen zu erhalten, wurden vor Versuchsbeginn die Herzen 3o Minuten mit glykosidfreier Perfusionslösung durchströmt.

Ia. Bestimmung der Glykosidaufnahme durch Direktmessung.

Der Perfusionslösung wurden Digitoxin in Konzentrationen von o,5 - 2,o x $1o^{-7}$ M/l und 2,o bzw. 4,o x $1o^{-7}$ M/l Ouabain zugesetzt und die Herzen damit 1,5 bis 9o Minuten perfundiert. Zum jeweilig gewünschten Zeitpunkt wurde die Perfusion unterbrochen und das Organ sofort mit einem MSE-Messerhomogenisator in 25 ml Methanol 6o Sekunden bei 12ooo U/Minute homogenisiert. Zur ^3H-Messung gelangte 1 ml des Überstandes.

Ib. Bestimmung der Glykosidaufnahme und -abgabe durch indirekte Messung.

Die Herzen wurden 3o Minuten lang mit glykosidhaltiger Lösung perfundiert und dabei die Glykosidaufnahme alle 3 Minuten aus der Differenz zwischen dem Glykosidgehalt der Perfusionslösung vor und nach Herzpassage bestimmt. Danach wurde die Durchströmung mit glykosidfreier Perfusionslösung 3o bis 9o Minuten fortgesetzt und die Glykosidabgabe alle 3 Minuten aus dem Gehalt der aus dem Herzen abtropfenden Lösung bestimmt. Am Versuchsende wurden die Herzen, wie unter Ia beschrieben, homogenisiert und der Glykosidgehalt gemessen.

Ic. Messung des Glykosidgehaltes im Meerschweinchenherzen nach Herzstillstand.

Meerschweinchenherzen wurden mit toxischen Glykosidkonzentrationen durchströmt, die zu Rhythmusstörungen und Herzstillstand führten. Die Zeit bis zum Eintritt des Herzstillstandes wurde registriert und der Glykosidgehalt zu diesem Zeitpunkt wie unter Ia im Herzen gemessen.

II. Messung der positiv inotropen Wirkung.

Zur Messung der positiv inotropen Wirkung wurde die Spannungsentwicklung der Kammermuskulatur mit einem Dehnungsmeßstreifen durch einen direktschreibenden Oscillographen (GRASS, Modell 5) registriert. Die Herzen wurden mit Rechteckimpulsen (2,o msec., 6 Volt) gereizt (25o bis 3oo/Minute). Die Werte wurden auf die Spannungsentwicklung vor Durchströmung mit Herzglykosiden (= 1oo%) bezogen.

III. Berechnung der Herzglykosidaufnahme- und -abgabekurven mit Hilfe eines Computers.

Nach Untersuchung der zeitlichen Abhängigkeit der Herzglykosidaufnahme und -abgabe am isolierten Herzen mit ^{3}H-markierten Glykosiden wurde versucht, die erhaltenen Kurven mit Hilfe eines Computers zu berechnen. Als Kriterien wurden dabei die GAUSS'schen Fehlerquadrate(d.h. die Quadrate der Abweichung des errechneten Wertes zum Meßwert) herangezogen.
Einige Überlegungen zur Aufnahme eines Stoffes in Zellen sollen zur Erläuterung der Computeranalyse vorausgeschickt werden (Vergleiche dabei Abb. 1):

Möglichkeit I:

Bedingung: Der Stoff wird an der Zelloberfläche angereichert, aber nicht in die Zelle aufgenommen oder chemisch gebunden (Abb. 1 I).
Es ist klar, daß bei ausreichendem Angebot in der Perfusionsflüssigkeit nach mehrmaligem Wechsel der Extrazellularflüssigkeit über das Gefäßsystem ein Gleichgewicht zwischen Aufnahme und Abgabe erreicht wird. Die Lage dieses Gleichgewichtes wird durch die Zahl der Bindungsstellen und der Geschwindigkeit, mit der die Bindung wieder gelöst wird, bestimmt. Übertragen auf das Herz bedeutet dies, daß nach mehrmaligem Wechsel der Extrazellularflüssigkeit, d.h. bei einem Coronardurchfluß von 5 ml/Minute dieses Gleichgewicht spätestens nach 1 - 2 Minuten erreicht sein sollte.

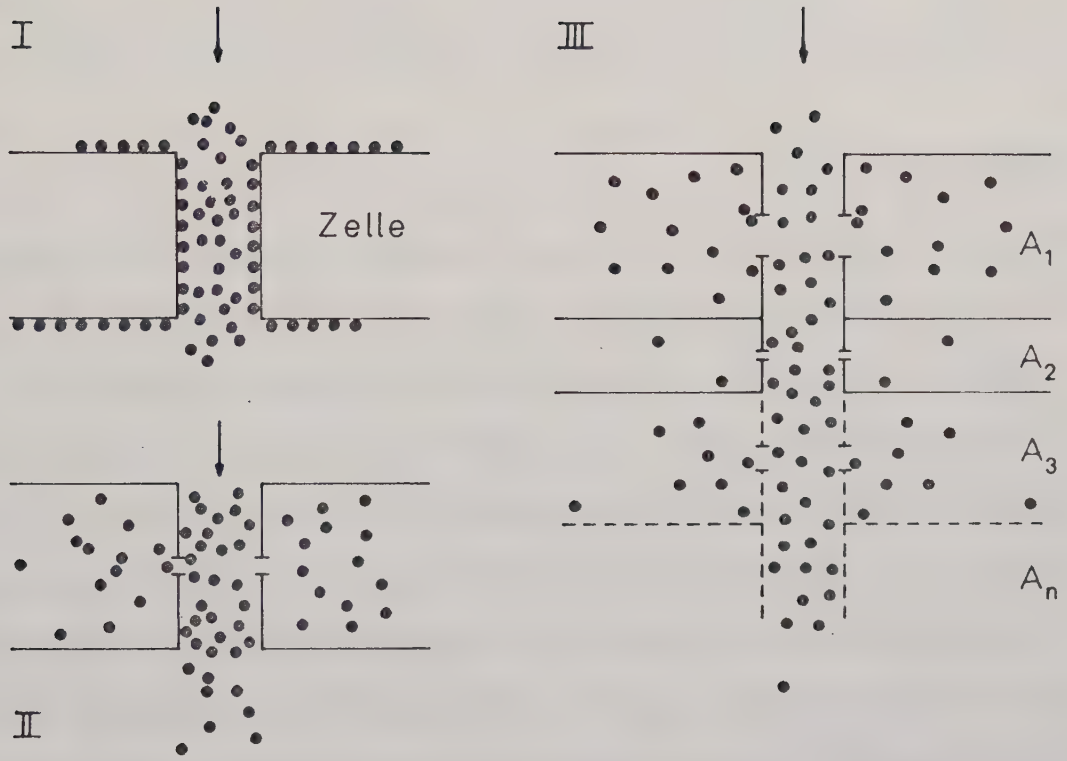

Abb. 1: Modelle zur Herzglykosidaufnahme und -abgabe

Wird das Herz mit einer glykosidfreien Perfusionslösung durchströmt, so werden die Glykoside von den Bindungsstellen wieder freigegeben. Bei einer schwachen Bindung, wie sie oben beschrieben, ist zu erwarten, daß die Abgabe mit ähnlicher Geschwindigkeit erfolgt wie die Aufnahme. Eine sehr feste Bindung sollte durch unterschiedliche Aufnahme- und Abgabegeschwindigkeiten sichtbar werden.

Möglichkeit II:

Bedingung: Der Stoff wird in die Zelle aufgenommen. Die Zahl der Durchtrittsstellen durch die Zellmembran ist begrenzt. Der Stoff wird nicht aktiv angereichert.
Es wird deutlich, daß ein konstanter Anteil der angebotenen Moleküle aus der Perfusionsflüssigkeit in die Zelle übertreten. Mit zunehmendem Gehalt des Zellinneren an Testmolekülen wird immer häufiger das Ereignis eintreten, daß Moleküle wieder in die Perfusionsflüssigkeit zurückgelangen.Auch hier wird dann ein Gleichgewicht erreicht, wenn gleich viele Moleküle in die Zelle ein- und austreten. Die Übertrittsrate Perfusionsflüssigkeit <----> Zelle wird bestimmt durch die Zahl der an der Zelloberfläche vorhandenen Durchtrittsstellen. Für die Lage des Gleichgewichtes ist die Größe des für die Testmoleküle erreichbaren Raumes und eine etwaige Bindung an subzelluläre Strukturen verantwortlich, die die Konzentration an frei beweglichen Molekülen im Zellinnern herabsetzt. Umgekehrt wird bei Perfusion mit testmolekülfreier Lösung die Zelle pro Zeiteinheit einen bestimmten Anteil der in der Zelle

vorhandenen Moleküle abgeben.

Es ist jedoch zu erwarten, daß auf Grund des komplizierten Aufbaues der Muskelzelle weder Modell I noch Modell II in reiner Form verwirklicht sind, sondern daß sich die Muskelzelle aus mehreren Abteilungen (Kompartimente) mit unterschiedlichen Aufnahme- und Abgaberaten zusammensetzt, wie es im Modell III (Abb. 1) dargestellt ist.
Modell I läßt sich methodisch schwer bestimmen, da dabei Aufnahme und Abgabe in sehr kurzer Zeit ablaufen und die Konzentration des zu prüfenden Stoffes in der von den Coronarvenen abgegebenen Flüssigkeit von Profilströmen, die von der Anatomie des Gefäßbaues mitbestimmt werden, abhängt. Außerdem können Proben nur in zeitlichen Abständen von 1 Minute entnommen werden und reichen zur Analyse derartig schneller Vorgänge nicht aus. Eine Berechnung wurde deshalb nicht versucht und erwies sich auch als überflüssig, da die positiv inotrope Wirkung später einsetzt, als zu erwarten wäre, wenn die Ursache der Wirkung durch den Gehalt im Extrazellularraum bestimmt würde.

Nach Modell II ist die Glykosidaufnahme dem Angebot in der Perfusionsflüssigkeit proportional und läßt sich durch folgende Gleichung beschreiben:

$$\frac{dy}{dt} = k \times C$$

y = Glykosidgehalt im Herzen zur Zeit t

t = Zeit

k = Aufnahmekonstante (Anteil von C, der pro Zeiteinheit aufgenommen wird)

C = Konzentration im Perfusionsmedium

Für die Glykosidabnahme gilt folgende Beziehung:

$$y = k \times A$$

y = Glykosidgehalt im Herzen zur Zeit t

A = Glykosidgehalt im Herzen zur Zeit ∞

k = Abgabekonstante

Integriert ergeben diese Gleichungen die bekannten Exponentialfunktionen

für die Aufnahme:

$$y = A \times (1 - e^{-kt})$$

A = Glykosidgehalt im Herzen zur Zeit ∞ ,

für die Abgabe:

$$y = A \times e^{-kt} .$$

Modell III setzt sich aus n Kompartimenten zusammen und läßt sich wie folgt beschreiben:
Es gilt für die Aufnahme:

$$y = A_1 + A_2 + \ldots + A_n - (A_1 \times e^{-k_1 t} + A_2 \times e^{-k_2 t} + \ldots + A_n \times e^{-k_n t}).$$

Es gilt für die Abgabe:

$$y = A_1 \times e^{-k_1 t} + A_2 \times e^{-k_2 t} + \ldots + A_n \times e^{-k_n t} .$$

Im oben genannten Gleichungssystem sind aus den durchgeführten Untersuchungen der Glykosidgehalt in den Herzen zur Zeit t und die Zeit t bekannt. Aus jedem Einzelversuch können ca 3o Gleichungen aufgestellt werden. Durch Variation der Werte $A_1 - A_n$ und der Abgabekonstanten $k_1 - k_n$ war es mit Hilfe des Computers möglich, die Anzahl der e-Funktionen und die Konstanten A und k zu finden, durch die die ermittelten Meßwerte am einfachsten beschrieben werden können. Als Kriterium wurden dabei die GAUSS'schen Fehlerquadrate herangezogen.

IV. Radiochemische Analysen

Jeweils 1 ml Methanolhomogenisat wurden mit 9 ml Scintillatorflüssigkeit versetzt. Die Scintillatorflüssigkeit enthielt im Liter: 6o g Naphthalin, 4 g PPO, 2oo mg POPOP, 1oo ml Methanol, 2o ml Glykol und 88o ml p-Dioxan (2). Die Meßansätze wurden anschließend mit Tricarb (Packard) auf ihren ^{3}H-Gehalt untersucht. Die Meßzeit betrug 1o Minuten.

V. Verwendete Substanzen

^{3}H-Digitoxin und ^{3}H-Ouabain wurden statistisch markiert mit einer spezifischen Aktivität von 1ooo mC/mM, von NEN Chemicals, Boston, bezogen, und mit inaktivem Glykosid auf die gewünschte spezifische Aktivität verdünnt. Digitoxin und g-Strophanthin wurden von der Firma E.MERCK AG Darmstadt bezogen.

Ergebnisse:

Bietet man dem isolierten,schlagenden Meerschweinchenherzen Digitoxin in einer Konzentration von 1 x $1o^{-7}$ M/l in der Perfusionsflüssigkeit an, so zeigt die Lage der Dreiecke deutlich,daß die Digitoxinaufnahme nach ca 2o Minuten einer Sättigung bei ca o,9 ug/g Herzgewebe zustrebt (Abb. 2 ausgefüllte Dreiecke). Jedes dieser Dreiecke stellt einen Einzelversuch dar. Nach 6o Minuten Perfusion nimmt das Meerschweinchenherz ca 1 ug/g Herzgewebe Digitoxin auf, d.h. Digitoxin wird gegenüber der Perfusionsflüssigkeit (o,o764 ug/ml) ca 13fach angereichert.

Obwohl bei Ouabain eine Konzentration von 4 x $1o^{-7}$ M/l in der Perfusionsflüssigkeit (o,233 ug/ml) angeboten wurde, wird es vom Meerschweinchenherzen in wesentlich geringerer Menge (o,5 ug/g Herzgewebe) aufgenommen (Abb. 3 ausgefüllte Kreise). Für Ouabain ist bereits nach 9 Minuten eine Sättigung erreicht; es wird nur um den Faktor 2,2 angereichert.

Auch vom Rattenherzen werden Digitoxin und Ouabain aufgenommen (Abb. 2 und 3 unausgefüllte Dreiecke und Kreise). Auffallend ist, daß unter identischen Versuchsbedingungen das Rattenherz nur halb soviel Digitoxin (o,5 ug/g Herzgewebe) und Ouabain (o,25 ug/g Herzgewebe) aufnimmt wie das Meerschweinchenherz.

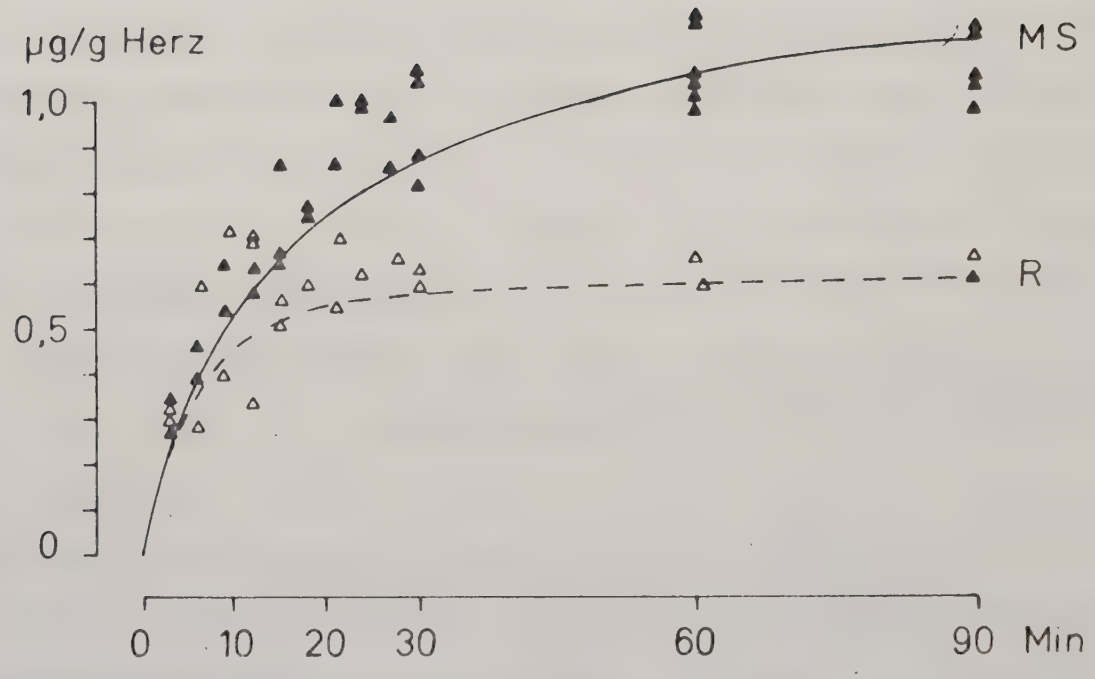

Abb. 2: Digitoxinaufnahme durch das Meerschweinchen-(MS) und Rattenherz (R).
Digitoxinkonzentration 1 x 10^{-7} M/l
Δ,▲ Einzelversuch: Die Perfusion wurde zum jeweiligen Zeitpunkt unterbrochen und der Digitoxingehalt im Herzen direkt bestimmt.
Kurve berechnet nach Gleichung (1) (siehe Diskussion).

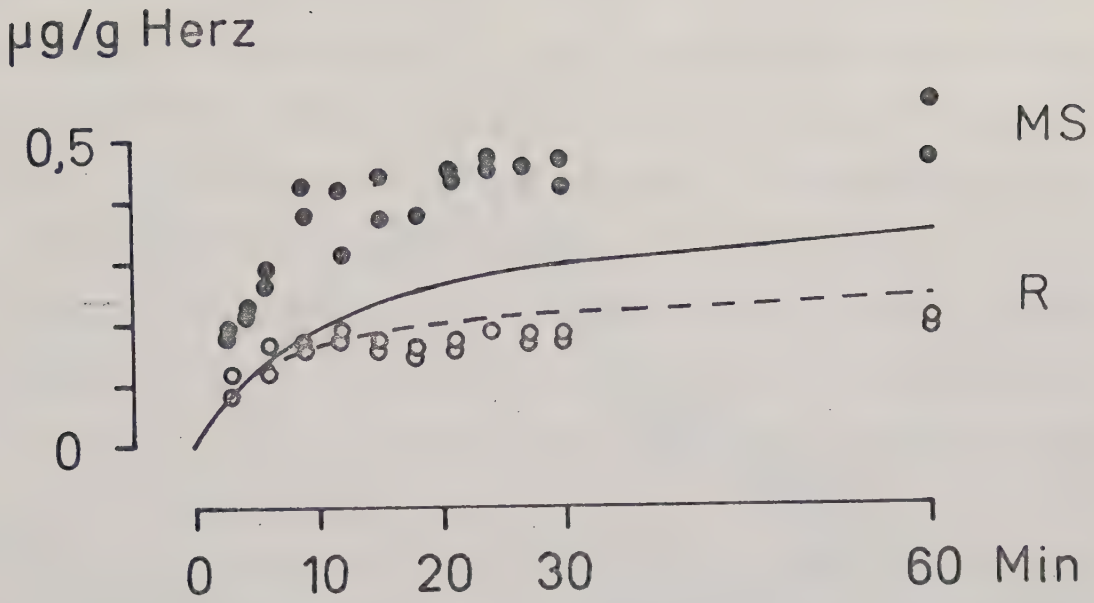

Abb. 3: Ouabainaufnahme durch das Meerschweinchen-(MS) und Rattenherz (R).
Ouabainkonzentration 4 x $1o^{-7}$ M/l
●,o Einzelversuch: Die Perfusion wurde zum jeweiligen Zeitpunkt unterbrochen und der Digitoxingehalt im Herzen direkt bestimmt.
Kurve berechnet nach Gleichung (1) (siehe Diskussion).

Um die Kinetik zu studieren, wurden die Herzen 3o Minuten mit glykosidhaltiger Lösung perfundiert und dabei die Glykosidaufnahme aus der Differenz zwischen dem Glykosidgehalt der Perfusionslösung vor und nach Herzpassage bestimmt.Diese Ergebnisse (Abb. 4) stimmen für Digitoxin gut mit den Werten überein, die durch direkte Bestimmung des Digitoxingehaltes im Herzen gewonnen wurden (Vergleiche Abb. 2 und 4). Für Ouabain konnte die Glykosidaufnahme nicht aus der Konzentrationsdifferenz ermittelt werden, da der Anteil des Ouabains, der aus der Perfusionsflüssigkeit entnommen wird, nur sehr gering ist.

Zur Messung der Abgabe wurde nach 3o Minuten Perfusion mit glykosidhaltiger Lösung die Durchströmung mit glykosidfreier Perfusionslösung 3o bis 9o Minuten fortgesetzt und die abgegebene Menge aus dem Glykosidgehalt der aus dem Herzen abtropfenden Lösung bestimmt. Um die Untersuchungen übersichtlich darstellen zu können, wurde aus der abgegebenen und noch im Herzen verbliebenen Glykosidmenge nach 3o Minuten Perfusion mit glykosidfreier Lösung der im Herzen vorhandene Gehalt bestimmt und gleich 1oo% gesetzt. Mit Hilfe eines Computers wurde dann versucht, die Werte, die sich aus der Glykosidabgabe ergaben, durch Gleichungen zu beschreiben, die zu anschaulichen Modellvorstellungen der Herzglykosidaufnahme und -abgabe paßten. Als Kriterium wurde die Methode der kleinsten Quadrate nach GAUSS herangezogen. Es zeigte sich, daß sich die Ergebnisse am einfachsten mit zwei e-Funktionen beschreiben lassen:

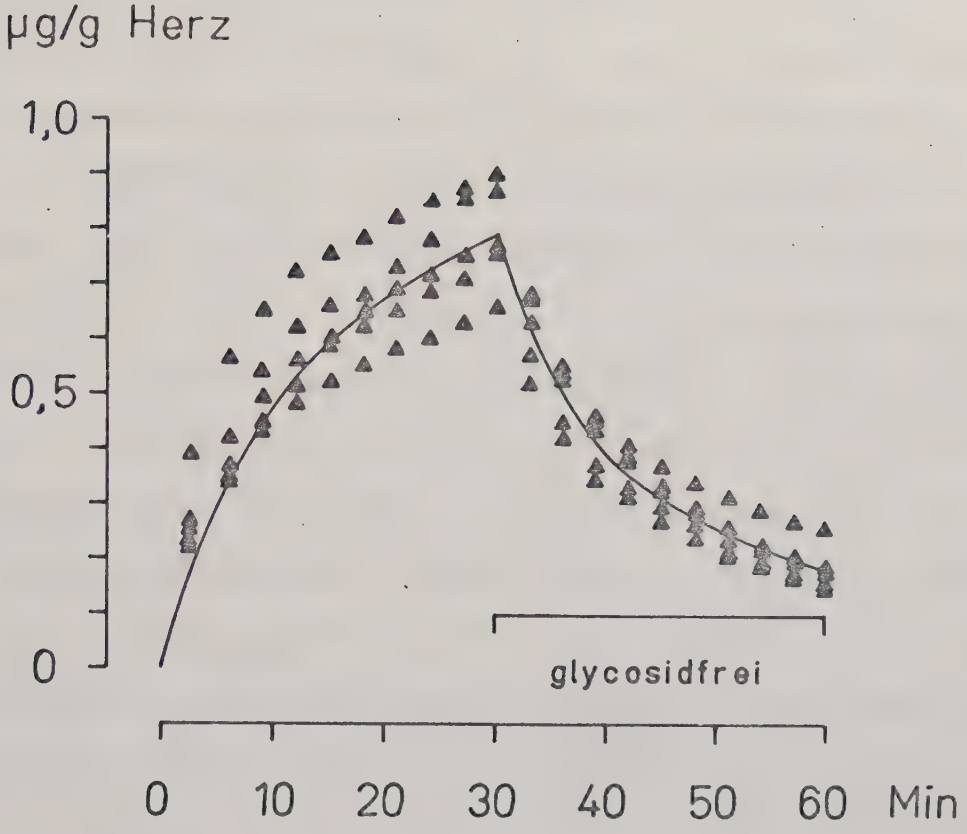

Abb. 4: Digitoxinaufnahme und -abgabe durch das Meerschweinchenherz (5 Einzelversuche).
Werte ▲ Gemessen aus dem Digitoxingehalt der Perfusionsflüssigkeit vor und nach Perfusion des Herzens.
Kurve berechnet nach Gleichungen (1) und (3).

$$y = A_1 \times e^{-k_1 t} + A_2 \times e^{-k_2 t} \qquad (1).$$

A_1 und A_2 sind dabei Kompartimentanteile in dem hypothetischen Modell, k_1 und k_2 die zugehörigen Abgabekonstanten. Eine Approximation der Kurven mit 3 e-Funktionen führt zu einer beträchtlichen Erhöhung der Fehlerquadrate, sowie zu einem Negativwerden von Kompartimentanteilen, was sinnlos ist. Ein Vergleich der Berechnung mit 2 und 3 e-Funktionen ist in Tabelle 1 wiedergegeben. Eine Beschreibung der Ergebnisse durch eine einzige e-Funktion verbietet bereits der Kurvenverlauf, wie eine Darstellung der Ergebnisse in halblogarithmischem Maßstab zeigt. Der Anschaulichkeit wegen sind in Tabelle 2 die Kompartimentanteile A_1 und A_2 in %, sowie die t/2 in Minuten der Versuche mit Digitoxin und Ouabain an Meerschweinchen- und Rattenherzen wiedergegeben.

Die wenig anschauliche Konstante k_1 steht zur angegebenen t/2, d.h. der Zeit, in der Kompartiment A_1 zur Hälfte entleert ist, in folgender Beziehung:

$$t/2 = \frac{\ln 2}{k_1} \qquad (2).$$

Die Tabelle 2 zeigt zunächst, daß beim Meerschweinchen ca 55% des aufgenommenen Digitoxins sich in einem Kompartiment befinden (A_1), das mit einer t/2 von 16,8 bis 2o,5 Minuten entleert wird; A_2, das 45% des Digitoxins aufgenommen

Tierart	Glykosid M/l	Versuchs-nummer	A_1		A_2		A_3		Δ^2
			%	t/2	%	t/2	%	t/2	
MEERSCHWEIN-CHEN	Digitoxin 1×10^{-7}	78	-0,0003	23,00	72,54	14,85	29,88	2,30	74,96
					69,56	17,49	30,47	2,67	0,29
		79	-32,38	38,00	102,41	18,35	32,45	2,52	38,38
					56,98	16,51	43,08	3,29	0,48
		80	48,58	18,72	3,69	19,43	47,73	3,42	2,32
					59,83	16,11	40,12	2,89	0,27
		81	0,04	-7,64	67,63	15,23	32,35	2,74	0,74
					62,94	16,84	37,04	3,04	0,37
		82	0,01	-7,12	67,43	15,88	34,22	2,62	13,24
					60,83	18,83	39,20	3,02	0,27
	Ouabain 4×10^{-7}	118	24,10	50,66	38,95	6,74	36,99	0,89	1,69
					51,24	18,29	48,47	1,22	9,81
		119	34,96	18,02	41,40	2,90	23,64	0,45	0,73
					48,71	12,98	50,45	1,14	18,54
		125	25,29	24,90	30,86	6,16	43,97	0,87	1,77
					47,95	14,21	51,94	1,06	5,61
		126	6,59	-130,66	60,62	3,42	32,92	0,86	2,13
					58,32	12,71	41,50	1,15	9,52
RATTE	Digitoxin 1×10^{-7}	139	-11,67	25,90	49,69	16,39	68,49	2,20	158,56
					12,44	52,35	83,73	4,10	16,43
		140	-0,45	8,10	35,52	29,10	71,37	2,34	593,61
					9,78	-73,64	94,73	5,31	55,10
		141	-9,56	81,50	45,51	18,28	70,59	2,24	[illegible]
					11,74	75,60	90,84	3,63	[illegible]
		142	4,33	1,28	18,58	38,30	77,45	2,46	[illegible]
					26,78	19,58	73,66	1,97	[illegible]
	Ouabain 4×10^{-7}	187	9,86	91,30	29,33	8,15	61,00	1,05	[illegible]
					33,12	16,37	66,90	1,17	4,43
		188	20,11	0,81	7,24	70,00	72,75	0,70	3,22
					24,19	15,38	75,82	0,74	5,18
		189	0,26	2,59	26,10	14,08	61,54	1,52	664,55
					26,59	23,22	72,29	1,58	fehlt!
		190	-2,62	23,30	29,51	15,35	61,68	1,01	323,59
					23,35	16,12	77,70	1,17	28,25

Tabelle 1

Tierart	Glykosid M/l	Glykosidgehalt nach 3o Min. µg/g Herz		A_1 %		A_1 µg	A_1 t/2		A_2 %		A_2 µg	A_2 t/2	
			ε		ε			ε		ε			ε
MEERSCHWEIN-CHEN	Digitoxin												
	$0{,}5 \times 10^{-7}$	0,423	0,017	54,5	1,36	0,23o	17,8	0,7	45,4	1,37	0,129	3,6	0,13
	$1{,}0 \times 10^{-7}$	0,891	0,042	57,8	1,81	0,514	2o,5	1,1	42,2	1,83	0,376	3,7	0,18
	$2{,}0 \times 10^{-7}$	1,432	0,082	55,8	3,91	0,799	16,8	1,o	44,2	3,92	0,633	2,8	0,4o
	Ouabain												
	$2{,}0 \times 10^{-7}$	0,211		36,2	4,13	0,1oo	19,8	1,5	4o,3	2,36	0,111	4,o	0,33
	$4{,}0 \times 10^{-7}$	0,3o3		34,2	2,86	0,145	2o,6	1,4	37,2	2,o9	0,158	3,7	0,3o
RATTE	Digitoxin												
	$1{,}0 \times 10^{-7}$	0,567	0,o5o	15,2	3,9o	0,o86	18,6	3o,1	87,2	4,63	0,49o	3,7	0,7o
	Ouabain												
	$4{,}0 \times 10^{-7}$	0,218		24,o	2,53	0,o86	2o,4	1,2	37,o	4,73	0,132	2,1	0,12

Tabelle 2

hat, gibt dieses wieder mit einer t/2 von 2,8 bis 3,7 yminuten ab. Die angebotenen Glykosidkonzentrationen (o,5 bis 2,o x $1o^{-7}$ M/l Digitoxin) haben auf diese Werte keinen Einfluß.

Für Ouabain ist der errechnete Kompartimentanteil A_1 um ein Drittel niedriger als für Digitoxin, A_2 unterscheidet sich kaum von dem für Digitoxin. Die t/2 für die Abgabe von Digitoxin und Ouabain sind für beide Kompartimentanteile A_1 und A_2 gleich.

Bei der Ratte fällt auf, daß der Kompartimentanteil A_1 für Digitoxin und Ouabain bedeutend kleiner ist als beim Meerschweinchen. Die Halbwertszeiten scheinen von denen beim Meerschweinchen nicht unterschieden zu sein. Die relativ große Streuung der t/2 von A_1 für Digitoxin bei der Ratte ist auf meßtechnische Probleme zurückzuführen, die sich aus der geringen Anmarkierung des Kompartiments A_1 mit Digitoxin ergeben.

Das in die Kompartimentanteile A_1 und A_2 nach 3o Minuten Perfusion aufgenommene Digitoxin und Ouabain ist in der Tabelle 2 zusätzlich in ug/g Feuchtgewicht angegeben. Die Werte zeigen, daß beim Meerschweinchen die Digitoxin- und Ouabainaufnahme proportional der in der Perfusionsflüssigkeitangebotenen Herzglykosidmenge ansteigt.

Bei einem Vergleich zwischen Meerschweinchen und Ratte fallen folgende Besonderheiten auf:

Die prozentuale Relation von A_1 und A_2 ist für Digitoxin

beim Meerschweinchen 58 : 42

bei der Ratte 15 : 87.

Betrachtet man das Verhalten der absoluten Werte (ug), so stellt man fest, daß in A_2 bei der Ratte der Digitoxingehalt um 2o% höher leigt als beim Meerschweinchen (o,49o ug versus o,376 ug), während in A_1 bei der Ratte der Digitoxingehalt um 83% niedriger liegt als beim Meerschweinchen (o,o86 ug versus o,514 ug).

Für O u a b a i n befinden sich bei der Ratte in A_2 etwa 16% weniger als beim Meerschweinchen. In A_1 hingegen ist bei der Ratte etwas mehr als die Hälfte der beim Meerschweinchen vorgefundenen Ouabainmenge enthalten, d.h. während bei der Ratte das Kompartiment A_1 von Ouabain und Digitoxin gleichviel aufnimmt, enthält es beim Meerschweinchen 3,5mal mehr Digitoxin als Ouabain (in allen Fällen war das Ouabainangebot 4mal höher).

Während für das Meerschweinchen bei Digitoxin die Addition der vom Computer errechneten Kompartimentanteile A_1 und A_2 1oo% ergibt, beträgt sie für Ouabain nur ca 7o%. Diese Differenz ist auf den Extrazellularraum zurückzuführen, der bei Ouabain besonders ins Gewicht fällt (siehe Diskussion).

Um einen Zusammenhang zwischen dem Herzglykosidgehalt in den Kompartimentanteilen und der positiv inotropen Wirkung aufzufinden,wurde neben der Glykosidaufnahme die Spannungsentwicklung der Kammermuskulatur mit einem Dehnungs$_{meß-}$

streifen nach supramaximaler Reizung registriert. Der Abfall unter die Ausgangslage (1oo%) ist auf das mit der Versuchsdauer zunehmende Ödem im Herzmuskelgewebe zurückzuführen und läßt sich bei Durchströmung mit eiweißfreier Lösung nicht vermeiden. Die Mittelwertskurven zeigen, daß nach Perfusion mit 1 x $1o^{-7}$ M/l Digitoxin und 4 x $1o^{-7}$ M/l Ouabain die Spannungsentwicklung des Meerschweinchenherzens nach einer Latenzzeit von 2 Minuten (Abb. 5) zunimmt und nach ca 15 Minuten einen Endwert erreicht.Bei der nachfolgenden Perfusion mit glykosidfreier Lösung nimmtdie glykosidbedingte Zusatzspannung etwa im gleichen Zeitraum wieder ab.

Um zusätzliche Information über den Zusammenhang zwischen Wirkung Und Glykosidgehalt zu erhalten, wurden Meerschweinchenherzen -Rattenherzen sind aus genannten Gründen nicht geeignet- mit toxischen Glykosidkonzentrationen in der Perfusionsflüssigkeit durchströmt. Jeweils bei Eintritt des Herzstillstandes wurde der Glykosidgehalt im Herzen gemessen. Die Tabelle 3 zeigt, daß bei Durchströmung mit 4 x $1o^{-7}$ M/l Digitoxin nach 15 Minuten, mit der doppelten Konzentration nach 6,6 Minuten Herzstillstand eintritt. Die Herzen haben zu diesem Zeitpunkt 2,8 bzw. 4,27 ug/g Feuchtgewicht Digitoxin aufgenommen.
Mit doppelt so hohen Ouabainkonzentrationen im Angebot wurden ähnliche Zeiten gefunden. Der Gehalt in den Herzen

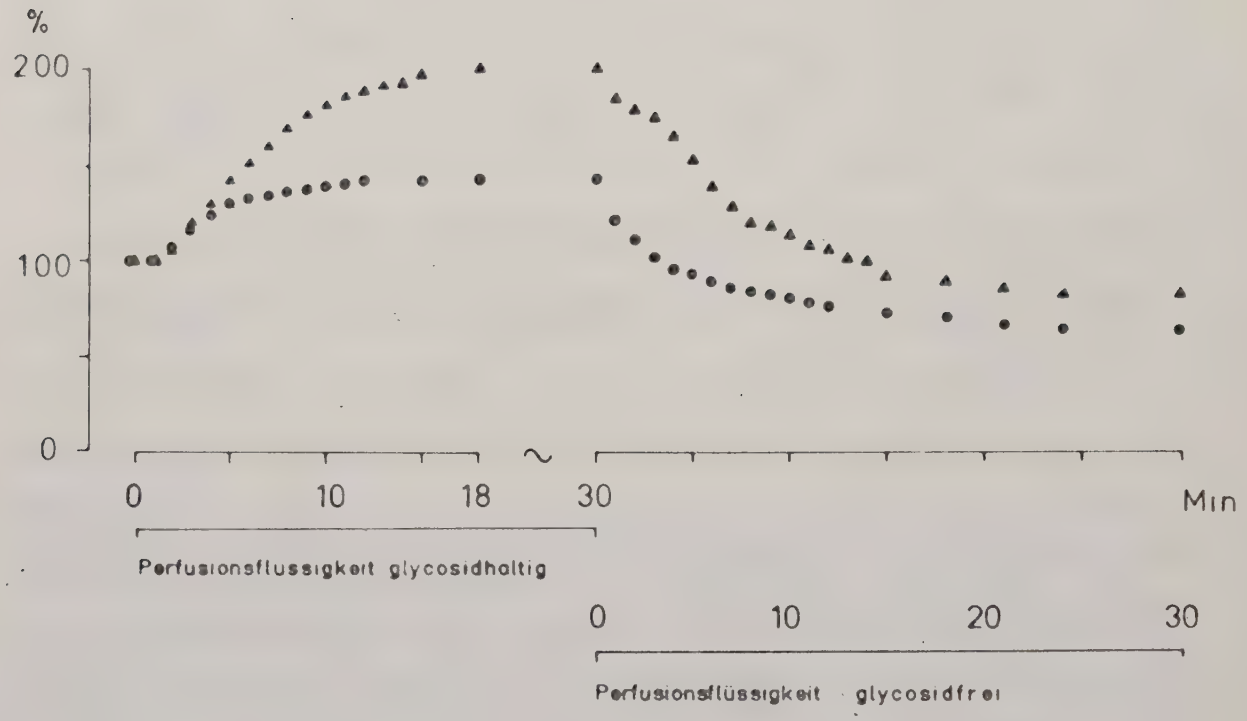

Abb. 5 : Kontraktionskraft des Herzens nach Durchströmung mit 1 x 10^{-7} M/l Digitoxin(▲) und 4 x 10^{-7} M/l Ouabain(●). Ausgangswert = 100%. Nach 30 Minuten wurden die Herzen mit glykosidfreier Perfusionslösung durchströmt. (Die Herzen wurden mit Rechteckimpulsen (2 msec., 6 V) gereizt (250 - 300/Minute)).

Perfusionsflüssigkeit	Herzstillstand nach Minuten		Glykosidgehalt µg/g Herz nach Herzstillstand	
		€		€
Digitoxin M/l				
$4{,}0 \times 10^{-7}$	15,1	1,76	2,80	0,22
$8{,}0 \times 10^{-7}$	6,6	0,16	4,27	0,19
Ouabain M/l				
$8{,}0 \times 10^{-7}$	17,1	8,29	0,68	0,14
$16{,}0 \times 10^{-7}$	10,5	2,12	0,99	0,17

Tabelle 3

betrug jedoch nur ein Viertel des Digitoxingehaltes zum Zeitpunkt des Herzstillstandes (Tab.3).

Diskussion:

Die Untersuchungen zeigen zunächst, daß die Herzglykosidmenge im Meerschweinchenherzen bei Durchströmung mit Digitoxin bis etwa 2o Minuten und bei Durchströmung mit Ouabain bis etwa 9 Minuten zunimmt (Abb.2). Aus dem Kurvenverlauf wird deutlich, daß die Herzglykosidaufnahme einer Sättigung zustrebt. Umgekehrt werden beide Herzglykoside bei Durchströmung mit glykosidfreier Lösung wieder abgegeben. Nach 3o Minuten finden wir Von Digitoxin und Ouabain ca 25% und nach 6o Minuten etwa 1o% der aufgenommenen Herzglykoside im Herzen(Abb.6 und 7). Hierin unterscheiden sich unsere Resultate wesentlich von denen Von LÜLLMANN et al.(16), die sagen, daß am Vorhof des Meerschweinchens nach 6o Minuten noch ein Restgehalt von 5o% Digitoxin bzw. 25% Ouabain zu finden sei.
Dieser Unterschied ist darauf zurückzuführen, daß die Herzglykoside beim Vorhofstreifenpräparat, das nicht durchströmt wird, Diffusionsstrecken von etwa o,5 mm zu überwinden haben und die Herzglykoside bei der Abgabe vermutlich mehrmals von Herzmuskelzellen aufgenommen werden. Bei der von uns verwendeten LANGENDORFF-Technik sind die Diffusionsstrecken kürzer und die Diffusionsbarrieren qualitativ anders. Abgesehen von der fehlenden Proteinbindung werden physiologische Verhältnisse nachgeahmt.

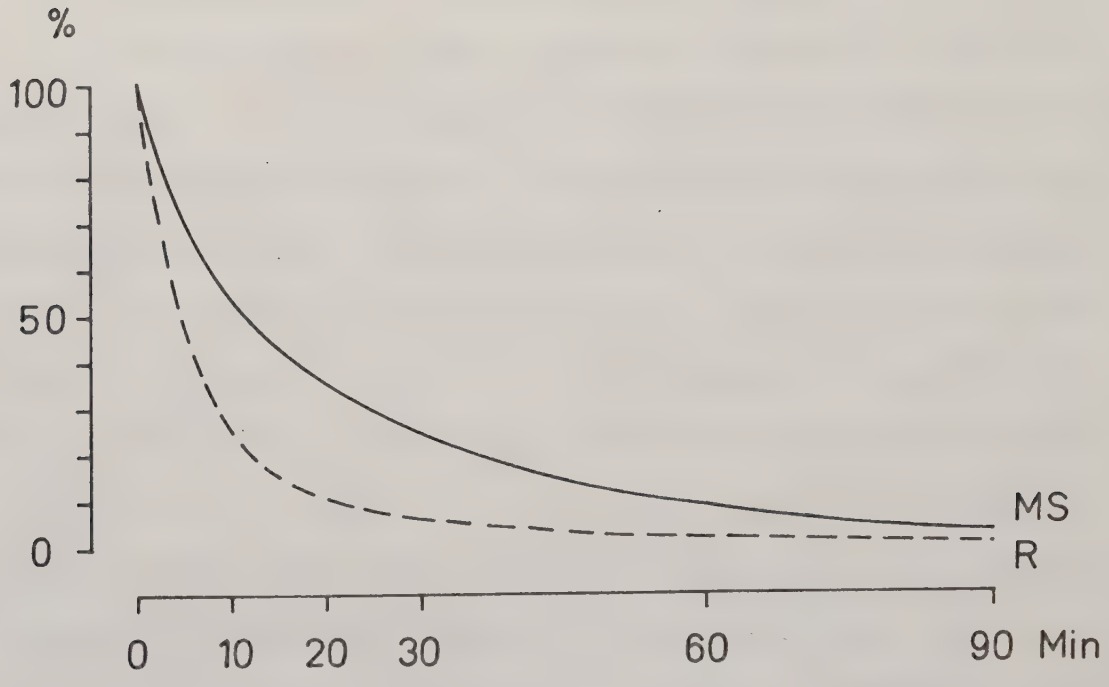

Abb. 6: Abgabe von Digitoxin bei Meerschweinchen (MS) und Ratte (R), berechnet nach der Gleichung (3). Angegeben ist der Gehalt des Herzens in % des Sättigungswertes.

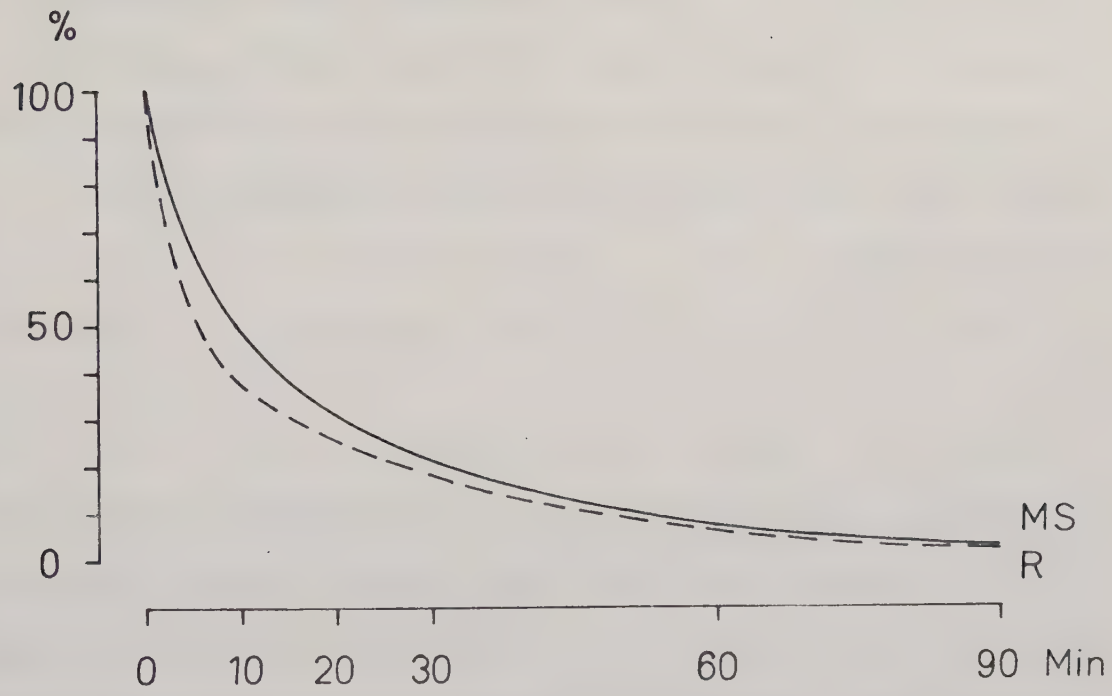

Abb. 7: Abgabe von Ouabain bei Meerschweinchen (MS) und Ratte (R), berechnet nach der Gleichung (3). Angegeben ist der Gehalt des Herzens in % des Sättigungswertes.

Die Computeranalyse zeigt (Tab.1), daß sich die Herzglykosidabgabe als die Summe von zwei e-Funktionen beschreiben läßt. Aus methodischen Gründen läßt sich die Herzglykosidabgabe genauer bestimmen als die -aufnahme, da die Meßwerte bei der Abgabe aus Absolutwerten, bei der Aufnahme aber nur aus der Konzentrationsdifferenz zwischen angebotener und abgegebener Lösung gewonnen werden.
Die Gleichung

$$Y = A_1 \times e^{-k_1 t} + A_2 \times e^{-k_2 t} \qquad (1)$$

beschreibt die Glykosidabnahme in Abhängigkeit von der Zeit t an einem Modell mit zwei Kompartimenten, wie es in Abb.1 III dargestellt ist. Trifft dieses Modell zu und ist kein eine Richtung bevorzugender Transport vorhanden, so sollten sich die Konstanten A_1 undk_1 bzw. A_2 undk_2 auch zur Berechnung der Herzglykosidaufnahme verwenden lassen, d.h. die gemessene Herzglykosidaufnahme sollte sich mit Hilfe dieser Konstanten voraussagen lassen.
Die Glykosidaufnahme wird an diesem Modell durch folgende Gleichung beschrieben:

$$Y = (A_1 + A_2) - (A_1 \times e^{-k_1 t} + A_2 \times e^{-k_2 t}) \qquad (3).$$

Berechnet man nach der Gleichung (3) die Digitoxinaufnahme (Abb. 2 ausgezogene Kurve) mit Hilfe der Konstanten aus Tab. 2 und vergleicht sie mit dem beim Meerschweinchen

nach verschiedenen Perfusionszeiten direkt ermittelten Glykosidgehalt, so stellt man eine gute Übereinstimmung zwischen berechneten und gemessenen Werten fest. Diese Übereinstimmung zeigt sich auch in Abb. 4, in der neben den gemessenen Werten aus 5 Einzelversuchen die errechnete Kurve dargestellt ist, die sich aus den aus der Abgabe errechneten Konstanten dieser Versuche ergibt. Die eingetragenen Meßwerte für die Aufnahme wurden hierbei aus der Differenz der Glykosidkonzentration vor und nach Herzpassage errechnet.
Damit ist die Modellvorstellung für Aufnahme und Abgabe zwar nicht direkt bewiesen -die erhaltene Kurve läßt sich sicher auch durch ein Polynom oder andere kompliziert gebaute Gleichungen annähern- , die Summe zweier e-Funktionen stellt aber bis jetzt die einfachste Deutung der Versuchsergebnisse dar, für die sich ein anatomisch vorhandenes Korrelat finden läßt.

Wendet man das gleiche Verfahren auf die Untersuchungen mit O u a b a i n am Meerschweinchenherzen an, so ist die Übereinstimmung zwischen errechneter Kurve und Einzelbestimmungen nicht zufriedenstellend (Abb.3). Die Meßpunkte scheinen alle um einen konstanten Wert höher zu liegen als die theoretisch errechnete Kurve. Eine Erklärung dafür ist darin zu suchen, daß sich nach den Berechnungen durch den Computer nur 71,4% (Summe von A_1 und A_2) der Herzglykoside in den Kompartimenten A_1 und A_2 befinden. Derfehlende Anteil findet sich im Extrazellular-

raum, der beim Rechengang nicht miterfaßt wird, der aber auf Grund des methodischen Vorgehens, mit dem die Einzelwerte bestimmt wurden, in den Meßwerten enthalten ist. Dieser auf den Extrazellularraum entfallende Anteil ist beim Ouabain wegen der geringen Aufnahme beträchtlich und kann beim Digitoxin, das etwa 13fach gegenüber der Perfusionsflüssigkeit angereichert wird, vernachlässigt werden.

Hinzu kommt noch, daß der Extrazellularraum beim Meerschweinchenherzengegenüber anderen Tieren besonders groß zu sein scheint (11). Von KUSCHINSKY et al.(15) wird der Extrazellularraum des Vorhofstreifens des Meerschweinchens mit 35% angegeben; an der Kammermuskulatur scheint der Extrazellularraum etwas größer zu sein.

Der Ouabaingehalt der Rattenherzen (Abb.3) stimmt besser mit den theoretischen Erwartungen überein. Wir führen dies darauf zurück, daß sich das Rattenherz nach Beendigung der Perfusion stärker kontrahiert als das Meerschweinchenherz und dadurch der Extrazellularraum weitgehend entleert wird.

Bei Betrachtung der Kompartimente ist darauf hinzuweisen, daß man sie sich nicht als einen einfachen Raum vorzustellen hat, sondern als eine Kapazität. Ob deren Begrenzung räumlicher Art (Volumen) oder eine gegebene Zahl von Bindungen ist, läßt sich an der Kinetik nicht ablesen.
Will man die "Größe" von A_1 und A_2 miteinander vergleichen,

so ist der vom Computer errechnete Tabellenwert A_1 (Tab.2) zu niedrig, da bei einer t/2 von 2o Minuten nach einer Perfusionszeit von 3o Minuten, wie sie zur Anmarkierung benutzt wurde, Kompartiment A_1 nur zu 67% die Sättigung erreicht hat. Aus den aus der Abgabe errechneten Konstanten können nach der Gleichung

$$A_1\infty = \frac{A_1}{1 - e^{-k_1 t}}$$

die Werte der Tabelle 2 korrigiert und die Sättigungswerte $A_1\infty$ errechnet werden: Tabelle 4. Bei einem Angebot von $1 \times 1o^{-7}$ M/l Digitoxin sind dann im Kompartiment A_1 in der Sättigung o,8o8 ug/g Herz enthalten.

Für Ouabain ist das Kompartiment A_1 etwas kleiner. Trotz 4mal höheren Ouabainangebotes befindet sich im Kompartiment A_1 3,5mal und in A_2 2,5mal weniger Ouabain als Digitoxin. Überraschend ist der Befund, daß die t/2 für die Abgabe aus den Kompartimenten A_1 und A_2 für Digitoxin und Ouabain nicht verschieden sind (Tab.2). Dieser Befund widerspricht den von LÜLLMANN (17) am Vorhofstreifen gewonnenen Ergebnissen.

Errechnet man aus den für den Zeitpunkt der Sättigung korrigierten Werten (Tab.4) die Herzglykosidabgabe, so erhält man die in Abb. 6 und 7 in % und in Abb. 8 und 9 in ug/g Herz berechneten Kurven. Besonders bei den Kurven,

Tierart	Glykosid M/l	A_1 µg	A_1 t/2	A_2 µg	A_2 t/2
MEERSCHWEIN-CHEN	Digitoxin				
	$0,5 \times 10^{-7}$	0,333	17,8	0,192	3,6
	$1,0 \times 10^{-7}$	0,808	20,5	0,376	3,7
	$2,0 \times 10^{-7}$	1,125	16,8	0,633	2,8
	Ouabain				
	$2,0 \times 10^{-7}$	0,153	19,8	0,111	4,0
	$4,0 \times 10^{-7}$	0,228	20,6	0,158	3,7
RATTE	Digitoxin				
	$1,0 \times 10^{-7}$	0,111	18,6	0,490	3,7
	Ouabain				
	$4,0 \times 10^{-7}$	0,134	20,4	0,132	2,1

Tabelle 4

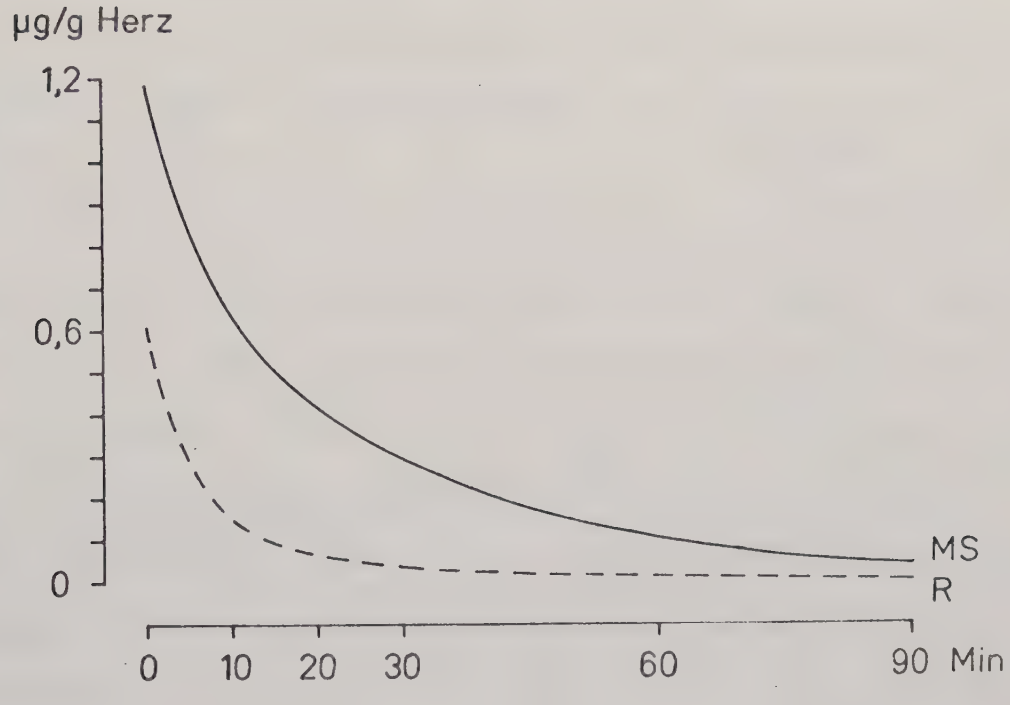

Abb. 8: Abgabe von Digitoxin bei Meerschweinchen (MS) und Ratte (R), berechnet nach der Gleichung (3). Angegeben ist der Glykosidgehalt des Herzens in Abhängigkeit von der Zeit.

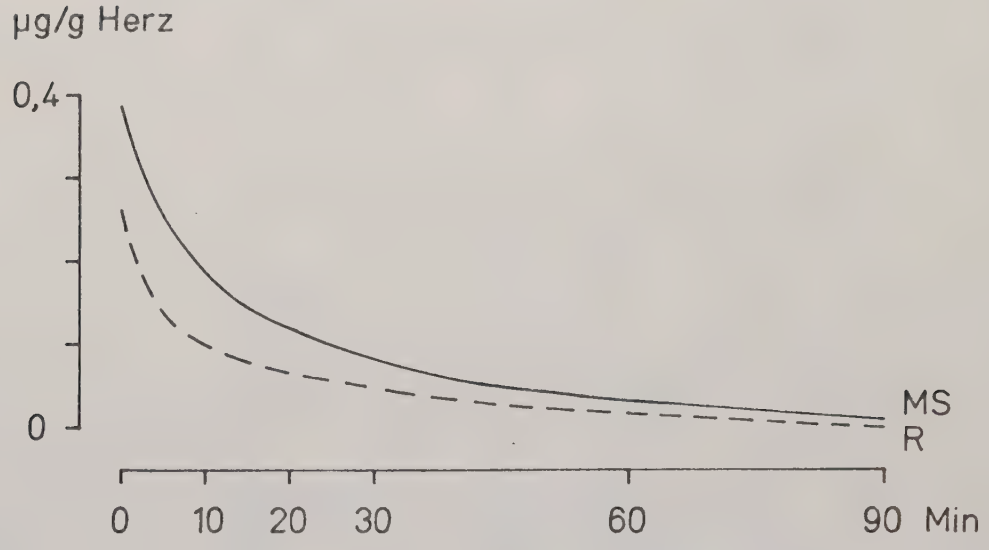

Abb. 9: Abgabe von Ouabain bei Meerschweinchen (MS) und Ratte (R), berechnet nach der Gleichung (3). Angegeben ist der Glykosidgehalt des Herzens in Abhängigkeit von der Zeit.

die den Gehalt in % darstellen, wird deutlich, daß das vom Herzen aufgenommene Digitoxin und Ouabain relativ schnell wieder vom Herzen abgegeben wird. Es ist daraus zu schließen, daß sie unterschiedliche Wirkungsdauer von Digitoxin und Ouabain nicht durch unterschiedlich e Bindung im Herzen, sondern durch extrakardiale Faktoren wie Proteinbindung, Ablagerung in Depots und Elimination durch Leber und Niere bestimmt wird.

Das Rattenherz, das für Herzglykoside unempfindlich ist, nimmt nur halb soviel Digitoxin und Ouabain auf wie das Meerschweinchenherz. In der Abb. 2 fällt weiterhin auf, daß die Digitoxinaufnahme bei der Ratte bereits nach 15 Minuten abgeschlossen ist. Die aus der Digitoxinabgabe errechneten Konstanten bestätigen diesen Befund und geben die Erklärung:
Kompartiment A_1, das beim Meerschweinchen ca 67% ausmacht (errechnet nach Tab.4), beträgt bei der Ratte nur 16%. Besonders die Kurven, die die Abgabe in % des Ausgangswertes darstellen (Abb. 6 und 7 gestrichelte Kurven für die Ratte), zeigen, wie sich die Größe des Kompartimentes A_1 auf den Verlauf der Glykosidabgabe auswirkt. Dieser Unterschied zwischen Ratte und Meerschweinchen erscheint in Hinblick auf die unterschiedliche Empfindlichkeit dieser beiden Spezies besonders wichtig.

Geht man davon aus, daß die Wirkung dann einsetzt, wenn eine Schwellenkonzentration an den für die Wirkung verantwortlichen Rezeptoren überschritten wird, und daß sich diese Wirkorte in einem bestimmten Kompartiment befinden, so sollte es möglich sein, bei der Glykosidaufnahme eine zeitliche Korrelation zwischen Wirkung und Glykosidgehalt nachzuweisen.Dabei ist in Rechnung zu stellen, daß die Glykoside auch an unspezifische Strukturen, die neben den spezifischen "Orten" in der Zelle vorhanden sind, gebunden werden. Eine besonders hohe Affinität zu spezifischen Rezeptorstellen sollte sich dadurch nachweisen lassen, daß die Wirkung nicht mit dem Glykosidgehalt korreliert, sondern daß die Wirkung früh einsetzt und ihren Endwert zu einem Zeitpunkt erreicht, zu dem die Aufnahme noch längst nicht abgeschlossen ist. Bei der Abgabe sollte die positiv inotrope Wirkung länger andauern, als vom Glykosidgehalt zu erwarten wäre.

Es hat sich in der Pharmakologie als zweckmäßig erwiesen, die DE_{50} d.h. die Dosis, die 5o% der Maximalwirkung hervorruft, zum Vergleich heranzuziehen. Bei unserem Vorgehen ist die in der jeweiligen Perfusionszeit aufgenommene Glykosidmenge der Dosis gleichzusetzen. Der Glykosidgehalt im Herzen ist also eine Funktion der Zeit. Es ist deshalb möglich, die Wirkung auf die Zeit zu beziehen. In der Abb. 1o wurde der nach der Zeit t erreichte Anteil der Maximalwirkung in der üblichen Summenhäufigkeitsprozent-

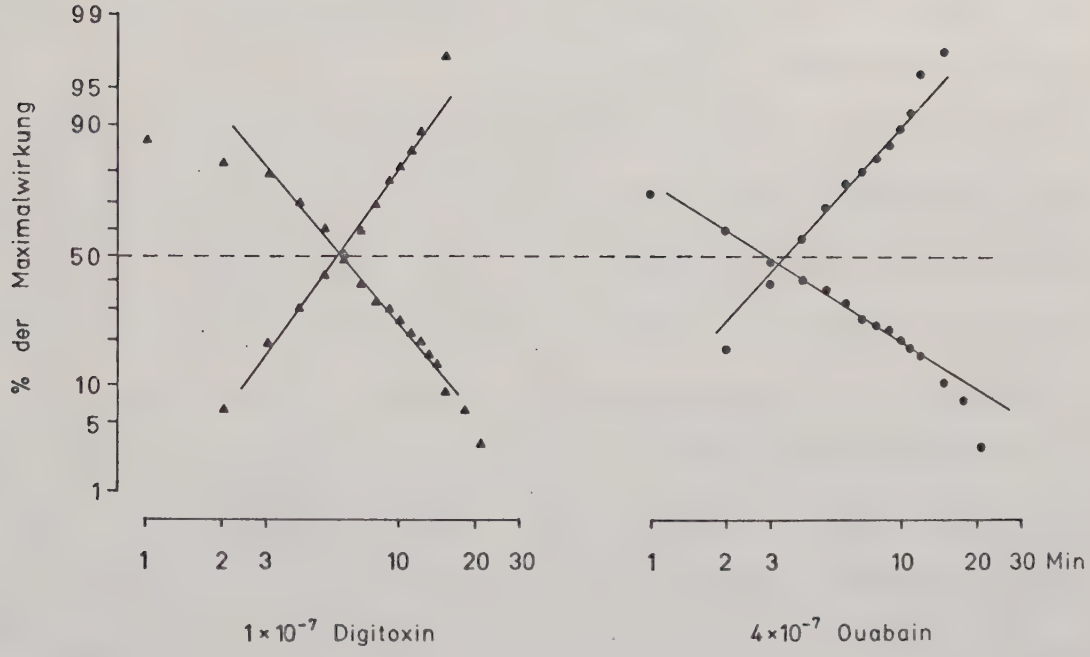

Abb. 1o: Darstellung der positiv inotropen Wirkung am Meerschweinchenherzen als Summenwirkungsprozent. Kurven von links unten nach rechts oben: Entwicklung der positiv inotropen Wirkung. Kurven von links oben nach rechts unten: Abnahme der positiv inotropen Wirkung. Zeit im logarithmischen Maßstab.

(hier Summenwirkungsprozent-) Darstellung gegen den Logarithmus der Zeit aufgetragen. Es zeigte sich nämlich, daß mit diesem Verfahren eine weitgehende Linearisierung der Meßergebnisse erreicht werden konnte, d.h. daß die Zeit der halben Maximalwirkung für die Wirkungszu- und -abnahme leicht ermittelt werden konnte.
(Die Linearisierung der Abhängigkeit des Wirkungseintrittes von der Dosis durch Darstellung als Summenhäufigkeitsprozent wird in der Pharmakologie zur Bestimmung der DL_{50} (dosis letalis 50%) oder der DE_{50} (dosis effectiva 50%) verwendet. Sie beschreibt die Reaktion einer Population auf ein Pharmakon.Es ist jedoch nicht statthaft, aus der Tatsache, daß es möglich ist, den Wirkungseintritt der Herzglykoside mit diesem Verfahren zu linearisieren, den Schluß zu ziehen, daß die Herzmuskelfasern aus einer population mit unterschiedlicher Empfindlichkeit zusammengesetzt sind. Von RIGGS (21) wurde nämlich gezeigt, daß auch Gesetzmäßigkeiten, die sich aus dem Massenwirkungsgesetz ergeben, durch Darstellung als Summenhäufigkeitsprozent linearisiert werden können.)

Die Abb. 5 und 1o zeigen, daß unter den gegebenen Versuchsbedingungenmit 1 x $1o^{-7}$ M/l Digtoxin 5o% der erreichbaren Maximalwirkung nach 6 Minuten erreicht sind bzw. in der gleichen Zeit wieder abklingen. Die mit Ouabain erhaltenen Werte liegen bei 3,5 Minuten. Auch LÜLLMANN (16) weist darauf hin, daß die Herzglykoside mit gleicher Geschwin-

digkeit aufgenommen werden und abgegeben werden.
Vergleicht man die Zeiten des Wirkungseintrittes mit den Aufnahme- und Abgabezeiten, so stellt man fest, daß Wirkungseintritt und Aufnahme- und Abgabegeschwindigkeit des Kompartimentes A_2 in der gleichen Größenordnung liegen. Der Extrazellularraum entleert sich mit einer t/2 unter 1 Minute schneller (11), das Kompartiment A_1 mit einer t/2 von ca 2o Minuten 5mal langsamer. Es liegt die Vermutung nahe, daß das Kompartiment A_2 beim Meerschweinchen für die positiv inotrope Wirkung verantwortlich ist.

Es stellt sich nun die Frage, ob diesem hypothetischen, mathematisch wahrscheinlich gemachten Modell III (Abb.1) histologische Strukturen der Herzmuskelzelle zugeordnet werden können. Hierzu könnte auch die im Vergleich zum Herzmuskel geringere Glykosidempfindlichkeit des Skeletmuskels (7,14) einen Hinweis geben.
Auf der Suche nach dem histologischen Unterschied zwischen Herzmuskulatur und Skeletmuskulatur stellt man fest, daß der Durchmesser der T-Kanäle beim Herzmuskel um ein Vielfaches größer ist als beim Skeletmuskel (1). Diese T-Kanäle sind Einstülpungen des Extrazellularraumes bis zur Mitte der Muskelfaser. Ihre Wand besitzt elektronenmikroskopisch den gleichen Aufbau wie die Zellmembran (Sarkolemm) und ist wie die Zellmembran von einer elektronenoptisch sichtbaren Schicht bedeckt, die aus einem Proteinpolysaccharid bestehen soll (Abb. 11 und 12). Kein Punkt der Herzmuskelzelle ist durch diese Kanäle weiter als 2 - 3 u vom "Extrazellularraum" d.h. der Zelloberfläche oder einem

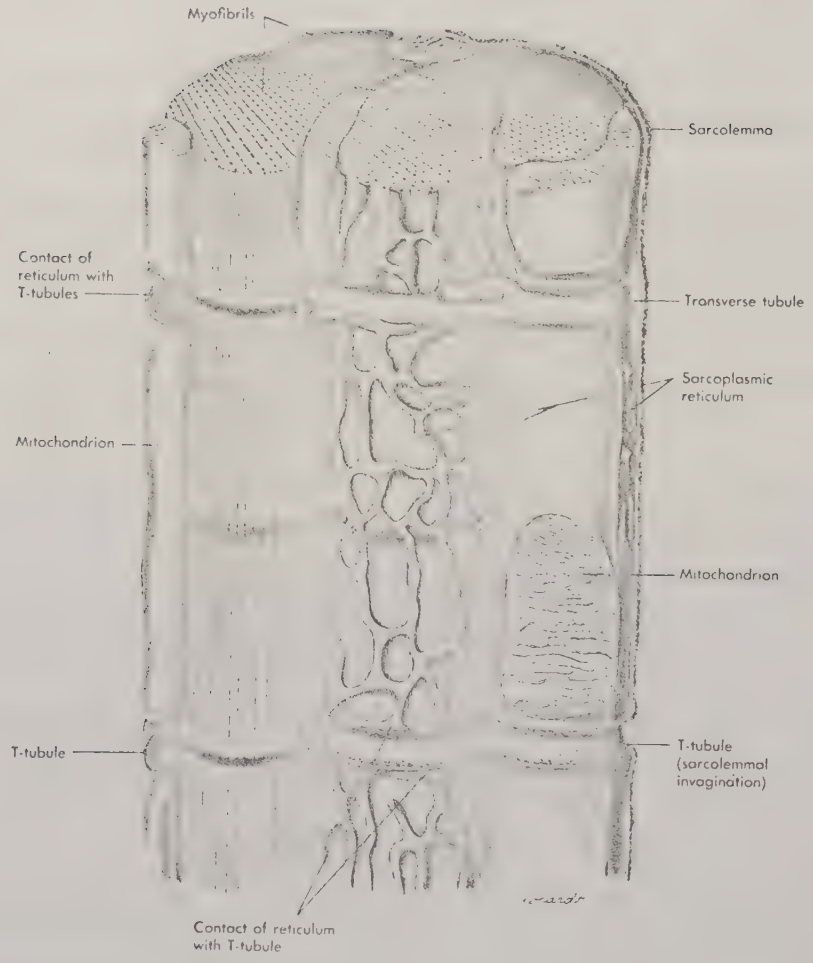

Abb. 11: Elektronenmikroskopische Darstellung des Herzmuskels (siehe (1)).

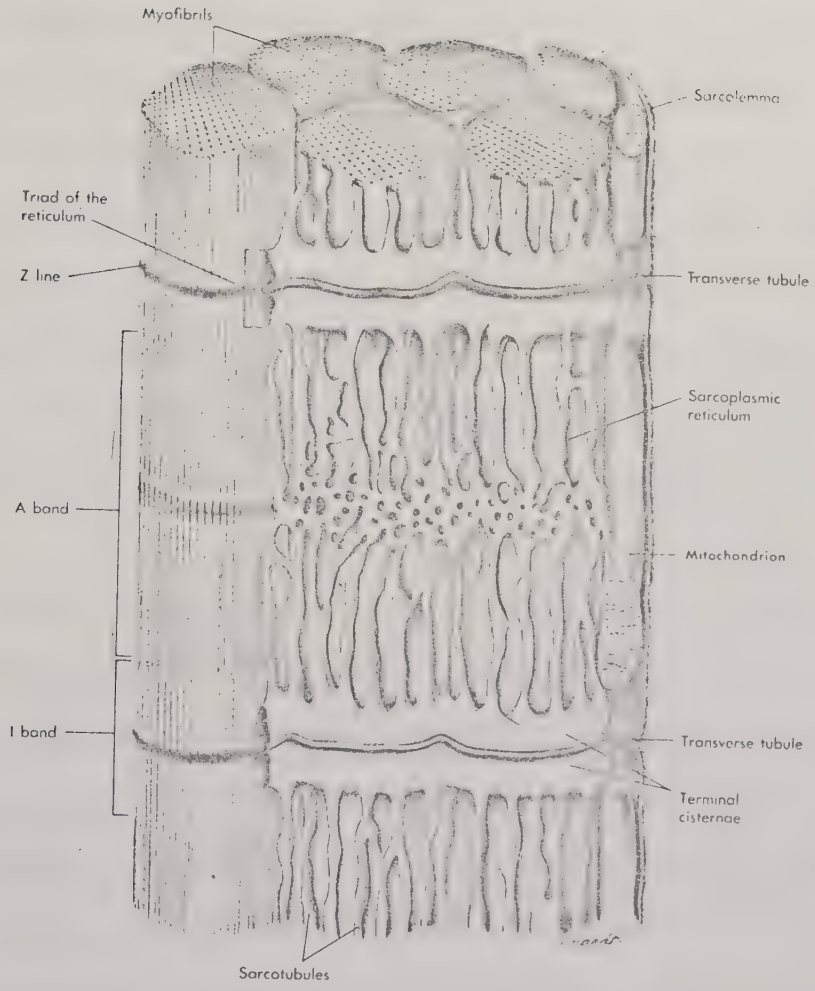

Abb. 12: Elektronenmikroskopische Darstellung des Skeletmuskels (siehe (1)).

T-Kanal entfernt. In unmittelbarer Nachbarschaft der T-Kanäle breitet sich das sarkoplasmatische Retikulum aus. Durch diese T-Kanäle soll der für die Herzmuskelzelle, auf Grund ihres im Vergleich zur Skeletmuskulatur niedrigen Gehaltes an energiereichen Phosphaten wichtige Stoffaustausch leicht vonstatten gehen. Sie sollen weiterhin der Erregungsleitung dienen. Der Austausch ~~dixxxxx~~ des Inhaltes dieser T-Kanäle geht sicher langsamer vonstatten als der des Extrazellularraumes, aber schneller als der des Zellinhaltes. Es besteht somit die Wahrscheinlichkeit, daß Kompartiment A_2 mit einer t/2 von 4 Minuten mit den T-Kanälen identisch ist.

Die niedrigere Empfindlichkeit der Skeletmuskulatur, was die positiv inotrope Wirkung anbetrifft, kann ebenfalls damit erklärt werden, denn die T-Kanäle in der Skeletmuskulatur sind viel enger als in der Herzmuskulatur.Leider stehen uns für den Warmblüter keine genauen Maßzahlen zur Verfügung, die einen quantitativen Vergleich zwischen den T-Kanälen von Herz- und Skeletmuskulatur gestatten (18). Bereits LÜLLMANN et al (17) erwägen die Aufnahme von Herzglykosiden in das T-Kanlsystem, korrelieren aber das Abklingen der positiv inotropen Wirkung mit dem Austausch "ihres" Extrazellularraumes. Bei dem Vorhofstreifenpräparat konnten sie aber nicht zwischen "wahrem" Extrazellularraum und einem Kompartiment mit geringerer Zugangsmöglichkeit,also zwischen der Zelloberfläche und dem T-Kanalsystem unterscheiden.

Für das im Austausch langsamere Kompartiment A_1 (t/2 von 2o Minuten) bietet sich als Analogon der Zellinnenraum an. Ein Zusammenhang zwischen der positiv inotropen Wirkung und dem Gehalt in diesem Kompartiment ist unwahrscheinlich, denn zum Zeitpunkt der Hälfte der erreichbaren Maximalwirkung (3,5 Minuten für Ouabain, 6 Minuten für Digitoxin) sind nur ca 12 bzw. 2o% der Sättigungskonzentration in diesem Kompartiment erreicht.
Der Austausch des Kompartimentes A_1 scheint vornehmlich durch die Zelloberfläche und nicht durch das T-System zu erfolgen. Wäre Kompartiment A_1 hinter Kompartiment A_2 geschaltet, d.h.würden Aufnahme und Abgabe der Herzglykoside über das T-Kanalsystem erfolgen, so würde dies wahrscheinlich zum gleichen Kurvenverlauf führen, wie wenn beide Kompartimente parallel geschaltet wären. Die Konzentration der Herzglykoside im T-Kanalsystem sollte dann aber länger erhöht bleiben, was sich an der Dauer der positiv inotropen Wirkung anzeigen müßte.

Die geringe Empfindlichkeit der Ratte scheint sich jedoch nicht durch ein fehlendes T-Kanalsystem erklären zu lassen, da bei der Ratte das Kompartiment A_2 mit einer t/2 von 3,7 Minuten,das wir dem T-Kanalsystem zugeordnet haben, nach unseren Messungen vorhanden ist. Vergleichende elektronenoptische Untersuchungen sind unseres Wissens nicht durchgeführt, sodaß diese Frage nicht beantwortet werden kann. Wir neigen allerdings zu der Annahme, daß die gerin-

ge Empfindlichkeit der Ratte auf eine Besonderheit von Membranproteinen zurückzuführen ist. Einen gezielten Hinweis bietet der Befund, daß die Serumproteinbindung bei der Ratte nur 6o%, bei Meerschweinchen und Mensch über 9o% beträgt (PFLEGER). Trifft diese Eigenschaft auch für bestimmte Proteine der Zelle zu, so wird verständlich, daß weniger Herzglykoside angereichert werden.
Die Bindung im T-Kanalsystem scheint bei der Ratte keine Besonderheit aufzuweisen, da sich hierfür kein Unterschied zum Meerschweinchen ergab. Dies steht allerdings im Widerspruch zu der Annahme, daß beim Meerschweinchen die Bindung im T-Kanalsystem für die positiv inotrope Wirkung verantwortlich ist. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß Herzglykoside -auch Ouabain- an Zellstrukturen gebunden werden, die mit der Wirkung nichts zu tun haben.

Die bisherigen Untersuchungen, die zur Hypothese von 2 bzw. 3 Kompartimenten geführt haben, wenn man den Extrazellularraum hinzurechnet, könnten durch die Bestimmung der zeitlichen Abhängigkeit des Eintrittes der positiv inotropen Wirkung weiter untermauert werden. Solche Untersuchungen liegen aber zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht vor.

Zusammenfassung:

Es wurden Aufnahme und Abgabe von Digitoxin und Ouabain an LANGENDORFF-Herzen von Meerschweinchen und Ratten untersucht. Die hierbei erhaltenen Werte wurden einer Kompartiment - Analyse unterzogen.
Unter der Annahme eines Zwei-Kompartiment-Modells wurden bei Meerschweinchen und Ratte für das Kompartiment A_1 Halbwertszeiten von 16,8 bis 2o,6 Minuten und für das Kompartiment A_2 Halbwertszeiten von 2,1 bis 4,o Minuten errechnet. Die Aufnahme in das Kompartiment A_2 war für beide Spezies nicht unterschieden. Die Aufnahme der beiden Glykoside in das Kompartiment A_1 zeigte jedoch deutliche Unterschiede zwischen Ratte und Meerschweinchen. Die geringere Aufnahme von Digitoxin und Ouabain in das Rattenherz im Vergleich zum Meerschweinchen wurde im Hinblick auf die geringe Wirksamkeit bei der Ratte diskutiert, wobei ein unterschiedlicher histologischer Aufbau der Herzmuskelzelle und Unterschiede in den Membranproteinen in Betracht gezogen wurden.

C O M P U T E R - P R O G R A M M

zur Berechnung der Kompartimente A_1 und A_2

sowie der Konstanten k_1 und k_2.

Rechner: ELECTROLOGICA X_1 des Rechenzentrums
der Universität des Saarlandes.

```
'BEGIN'
'COMMENT'ALGOL-PROGRAMM ZUM AUSGLEICH VON MESSWERTEN DURCH
SUMMEN VON EXP-FUNKTIONEN PLUS EVTL. EINER KONSTANTEN.
RECHNER: ELECTROLOGICA X1 DES RZ DER UNIV. D. SAARLANDES.
COMPILER: ALCOR-KIEL X1;
'INTEGER'M,N,FL,IMAX;
'BOOLEAN'UNG;
READ(FL);
'COMMENT'VERSUCHS-NR.;
ANFANG: READ(M,N);
UNG:=N'DIV'2×2'NOT EQUAL'N;
'BEGIN''INTEGER'I,J,K,KENN;
'REAL'HI,BI,DX,EQ,S;
'ARRAY'A,HL1:N],F,X,Y[1:M];
'COMMENT'REIHENFOLGE DER EINGABEDATEN:
1.) VERSUCHS-NR. (BIS ZU 6 STELLEN) : FL
    EINE NEGATIVE VERSUCHS-NR. BEWIRKT ABBRUCH DER RECHNUNG
2.) ANZAHL DER GEMESSENEN WERTEPAARE : M
3.) ANZAHL DER KOEFFIZIENTEN IN DER EXP-SUMME : N
    N GERADE : REINE EXP-SUMME
    A[1]×EXP(A[2]×X)+...+A[N-1]×EXP(A[N]×X)
    N UNGERADE: EXP-SUMME PLUS KONSTANTE A[N]
    A[1]×EXP(A[2]×X)+...+A[N-2]×EXP(A[N-1]×X)+A[N]
4.) MESSWERTE X[I], Y[I], I=1,...,M
5.) NAEHERUNGEN DER GESUCHTEN KOEFFIZIENTEN A[I], I=1,...,N
    DIE WERTE MIT GERADZAHLIGEM INDEX SIND ALS HALBWERTS-
    ZEITEN ANZUGEBEN, IHRE UMRECHNUNG IN EXPONENTEN DER
    EXP-FUNKTION ERFOLGT IM PROGRAMM
6.) NAECHSTER VERSUCH
    FALLS ALLE VERSUCHE DURCHGERECHNET SIND BEWIRKT EINE
    NEGATIVE VERSUCHS-NR. DEN ABBRUCH DER RECHNUNG;
```

```
'COMMENT'HIER SIND DIE PROZEDUREN TAYLOR, GAUSS,
        FUNCTION UND DERIVE ANZUGEBEN;

NLCR; ITMAX:=100;
'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'M'DO'READ(X[I],Y[I]);
'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
'BEGIN'READ(A[I]); H[I]:=A[I]'END'I;
WRITE('' VERSUCH-NR. : ''); FIXTA(6,0,FL); NLCR; NLCR;
WRITE('' ZEICHNERISCH ERMITTELTE KOEFFIZIENTEN:''); NLCR;
'FOR'I:=1'STEP'2'UNTIL'N-1'DO'
'BEGIN'FIXT(6,4,A[I]); SPACE(2); FIXT(6,4,A[I+1]);
SPACE(2); H[I+1]:=A[I+1]:=LN(.5)/A[I+1];
'COMMENT'HIER ERFOLGT DIE UMRECHNUNG DER HALBWERTSZEITEN;
FIXT(6,4,A[I+1]); NLCR
'END'I;
'IF'UNG'THEN'FIXT(6,4,A[N]); NLCR; NLCR; NLCR;
S:=10↑25;
TAYLOR(N,M,A,H,F,ITMAX,10↑-5,10↑-6,'TRUE',S,KENN,EXIT);
NLCR; PRINT(KENN,ITMAX); NLCR;
WRITE('' BERECHNETE KOEFFIZIENTEN: ''); NLCR;
'FOR'I:=1'STEP'2'UNTIL'N-1'DO'
'BEGIN'FIXT(6,4,A[I]); SPACE(2); FIXT(6,4,LN(.5)/A[I+1]);
SPACE(2); FIXT(6,4,A[I+1]); NLCR'END'I;
'IF'UNG'THEN'FIXT(6,4,A[N]); NLCR; NLCR; NLCR;
'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'M'DO'
'BEGIN'FIXT(6,4,X[I]); FIXT(6,4,Y[I]);
FIXT(2,6,F[I]); FIXT(6,4,F[I]-Y[I]); NLCR'END'I;
NLCR; NLCR; WRITE(''SUMME DER FEHLERQUADRATE = ''); FIXTA(6,4,S);
COL: READ(FL) 'IF'FL'GREATER'0'THEN''BEGIN'PAGE; 'GOTO'ANFANG'END';
'GOTO'ENDE;
```

```
EXIT: MEDIUM(1); NLCR; WRITE(''.MATRIX WIRD SINGULAER BEI .VERSUCH-.NR.:/'');

FIXTA(6,Ø,FL); NLCR; WRITE(''.BESSERE .NAEHERUNGEN EINGEBEN.'');

NLCR; MEDIUM(Ø); 'GOTO'COL;

'END';

ENDE:'END'
```

****

```
'PROCEDURE'TAYLOR(N,M,X,H,F,ITMAX,EPS1,EPS2,DER,S,KENN,EXIT);
'VALUE'N,M,EPS1,EPS2;
'INTEGER'N,M,ITMAX,KENN;
'REAL'EPS1,EPS2,S;
'BOOLEAN'DER;
'ARRAY'X,H,F;
'LABEL'EXIT;
'COMMENT'ERFOLGT SPAETER;
'BEGIN''INTEGER'I,J,K,Z,L;
'REAL'HF,HL,HS,HZ;
'ARRAY'FP,FM[1:M],B,DX[1:N],DFDX[1:M,1:N],AA[1:N,1:N];
HS:=S;  KENN:=Z:=0;
ITERATION: Z:=Z+1;
'IF'Z'GREATER'ITMAX'THEN''BEGIN'KENN:=1;'GOTO'ENDE'END';
L:=0;  HL:=1.0;
DAMP:  L:=L+1;
'IF'L'GREATER'16'THEN''BEGIN'KENN:=-1;'GOTO'ENDE'END' ;
FUNCTION(X,F);  HF:=0.0;
'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
HF:=HF+F[I]×F[I];
'IF'HF'GREATER'HS×(1.0-.2×HL)'THEN'
    'BEGIN'HL:=HL×.5;
          'FOR'K:=1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
          X[K]:=X[K]+HL×DX[K];'GOTO'DAMP
    'END';
HS:=HF;  'IF'HS'LESS'EPS1'THEN''GOTO'ENDE;
'IF'DER'THEN'DERIVE(X,DFDX)'ELSE'
'BEGIN' 'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
        'BEGIN' HF:=H[I]; HZ:=2.0×HF;
```

SEP 2? 16:21

```
                XL[I]:=XL[I]-HZ; FUNCTION(X,FM);
                XL[I]:=XL[I]+HF; HZ:=1.0/HZ;
                'FOR'K:=1'STEP'1'UNTIL'M'DO'
                DFDX[K,I]:=HZ*(FP[K]-FM[K])
        'END'
'END';
'IF'M'EQUAL'N'THEN'GAUSS(N,DFDX,F,DX,EXIT)'ELSE'
'BEGIN' 'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
        'BEGIN' HF:=0.0;
                'FOR'K:=1'STEP'1'UNTIL'M'DO'
                HF:=HF+DFDX[K,I]*F[K];
                B[I]:=HF;
                'FOR'K:=1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
                'BEGIN' HF:=0.0;
                        'FOR'J:=1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
                        HF:=HF+DFDX[J,I]*DFDX[J,K];
                        AA[I,K]:=AA[K,I]:=HF
                'END'
        'END';
        GAUSS(N,AA,B,DX,EXIT)
'END';
HZ:=HF:=0.0;
'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
'BEGIN' XL[I]:=X[I]-DX[I];
        HZ:=HZ+ABS(XL[I]);
        HF:=HF+ABS(DX[I])
'END';
'IF'HF'NOT LESS'EPS2*HZ'THEN''GOTO'ITERATION;
ENDE: FUNCTION(X,F); S:=0.0; IMAX:=Z;
'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'M'DO' S:=S+FL[I]-F[I]
'END'TAYLOR;
```

```
'PROCEDURE'GAUSS(N,A,B,X,SINGULAER);
'ARRAY'A,B,X;
'INTEGER'N;
'LABEL'SINGULAER;
'COMMENT' LOESUNG DES LINEAREN GLEICHUNGSSYSTEMS A×X = B DURCH
DIE METHODE VON GAUSS . A IST EINE QUADRATISCHE MATRIX MIT N
ZEILEN UND N SPALTEN . SEIEN AA,BA,XA DIE AKTUELLEN FELDER, DIE
A,B,X BEIM AUFRUF DER PROZEDUR ERSETZEN, UND NA DIE AKTUELLE
GANZE ZAHL, DIE N ERSETZT, DANN MUSS FOLGENDE VEREINBARUNG
IM AUFRUFENDEN PROGRAMM STEHEN :
     ARRAY  AA[1:NA,1:NA],BA,XA[1:NA]  .
DIE PROZEDUR NIMMT ERFORDERLICHE ZEILENVERTAUSCHUNGEN VOR,
FALLS EIN PIVOTELEMENT KLEINER ALS 10-5 WIRD UND KEHRT UEBER
DIE MARKE ''SINGULAER'' INS HAUPTPROGRAMM ZURUECK, FALLS
ALLE ZEILENVERTAUSCHUNGEN ZU EINEM ZU KLEINEN PIVOTELEMENT
FUEHREN . DIE FELDER A UND B WERDEN UEBERSPEICHERT;
'BEGIN'DREIECKFORM;
'BEGIN''INTEGER'I,J,K; 'REAL'R;
'FOR'K:=1'STEP'1'UNTIL'N-1'DO'
'BEGIN'NORMAL:'BEGIN''IF'ABS(A[K,K])'LESS'10-9'THEN'
'GOTO'ZEILENTAUSCH;
'FOR'I:=K+1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
'BEGIN'R:=A[I,K]/A[K,K];
'FOR'J:=K+1'STEP'1'UNTIL'N'DO'
A[I,J]:=A[I,J]-R×A[K,J];
B[I]:=B[I]-R×B[K]
'END'
'END';
'GOTO'ZURUECK;
```

SEP 22 16:22

```
ZUR:'IF'ABS(A[M,K])'LESS'10-9'THEN'M:=M+1'ELSE''GOTO'WEITER;
'IF'M'EQUAL'N+1'THEN''GOTO'SINGULAER'ELSE''GOTO'ZUR;
WEITER:'FOR'J:=K'STEP'1'UNTIL'N'DO'
'BEGIN'R:=A[K,J];A[K,J]:=A[M,J];A[M,J]:=R
'END';
R:=B[K]; B[K]:=B[M]; B[M]:=R ; 'GOTO'NORMAL
'END';
ZURUECK:'END'
'END'DREIECKFORM;
LOESUNG DREIECK:
'BEGIN''INTEGER'I,J;'REAL'TX;
'FOR'I:=N'STEP'-1'UNTIL'1'DO'
'BEGIN'TX:=0.0;
'FOR'J:=N'STEP'-1'UNTIL'I+1'DO'
TX:=TX-X[J]×A[I,J];
'IF'ABS(A[I,I])'LESS'10-9'THEN''GOTO'SINGULAER;
X[I]:=(B[I]+TX)/A[I,I] 'END'
'END' LOESUNG DREIECK
'END' GAUSS;
```

SEP 22 16:22

SEP 22 15:22

```
'PROCEDURE'FUNCTION(A,B);
'ARRAY'A,B;
'COMMENT'BERECHNET ZU GEGEBENEM VEKTOR A[1:N] DIE FUNKTIONSWERTE
B[1:M] VON A;
'BEGIN''INTEGER'I,J;
'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'M'DO'
'BEGIN' B1:=0;
'FOR'J:=1'STEP'2'UNTIL'N-1'DO'
B1:=B1+A[J]*EXP(A[J+1]*X[I]);'IF'UNG'THEN'B1:=B1+A[N];
B[I]:=B1 - Y[I] 'END'I /
'END'FUNCTION;
*****************************************************
'PROCEDURE'DERIVE(A,DBDA);
'ARRAY'A,DBDA;
'BEGIN''INTEGER'I,J;
'FOR'I:=1'STEP'1'UNTIL'M'DO'
'BEGIN' 'FOR'J:=1'STEP'2'UNTIL'N-1'DO'
'BEGIN' B1:=EXP(A[J+1]*X[I]); DBDA[I,J]:=B1;
        DBDA[I,J+1]:=A[J]*X[I]*B1'END'J;'IF'UNG'THEN'DBDA[I,N]:=1.0
'END'I
'END'DERIVE;
```

Literatur

1. BLOOM,W. und FAWCETT,W.: A Textbook Of Histology,197o Saunders Co, Philadelphia

2. BRAY,G.A.: A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter. Anal.Biochem.1,(196o): 279 - 285

3. DRANSFELD,H. GREEFF,K. BERGER,H.und CAUTIUS,V.: Die verschiedene Empfindlichkeit der Na^++K^+-aktivierten ATPase des Herz- und Skeletmuskels gegen k-Strophanthin. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharm.exp.Path.254,(1966): 225 - 234

4. DRANSFELD,H. GREEFF,H. und SCHORN,A.: Zur Wirkung der Digitalisglykoside auf den zellulären Kalziumstoffwechsel. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharm.exp.Path.257,(1967): 274 - 275

5. DUNHAM,E.T. und GLYNN,I.M.: Adenosinetriphosphatase activity and the active movements of alkali metal ions. J.Physiol.(Lond.)156,(1961): 274 - 276

6. FRICKE,U. GERBER,H.-G. KLAUS,W. und WOLLERT,U.: Vergleich der subzellulären Verteilung von ^{3}H-Strophanthin und ^{3}H-Digitoxin im Meerschweinchen. Arch.Pharm.exp.Path.263, (1969): 266 - 272

7. GREEFF,K. und WESTERMANN,E.: Untersuchungen über die muskellähmende Wirkung des Strophanthins. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharm.exp.Path.226,(1955): 1o3 - 113

8. HOFFMANN,J.F.: The link between metabolisme and the active transport of Na in human red cell ghosts. Fed.Proc.19,(196o):127 - 128

9. HOKIN,L.E.: On the molecular characterization of the sodium-potassium

transport adenosinetriphosphatase and its cardiotonic steroid site. Fundamental concepts in drug-receptor interactions, Academic Press, New York and London 1970: 205 - 213

10. KLAUS,W. KUSCHINSKY,G. und LÜLLMANN,H.: Über den Zusammenhang zwischen positiv inotroper Wirkung von Digitoxigenin, Kaliumflux und intrazellulären Ionenkonzentrationen im Herzmuskel. Arch.Pharm.exp.Path.242, (1961 - 62): 480 - 496

11. KOLASSA,N. und EDELMANN,J.: Persönliche Mitteilungen (1970)

12. KUSCHINSKY,K. LÜLLMANN,H. und VAN ZWIETEN,P.A.: A comparison of the accumulation and release of ^{3}H-Ouabain and ^{3}H-Digitoxin by guinea-pig heart muscle. Br.J.Chemother.32,(1968): 598 - 608

13. LANGENDORFF,O.: Experimente am überlebenden

Warmblüterherzen.
Pflüger's Arch.61,(1895):
291 - 332

14. LENDLE,L. und MERKER,H.: Extrakardiale Digitaliswirkungen.
Ergeb.Physiol.51,(1961):
199 - 298

15. LÜLLMANN,H. und VAN ZWIETEN,P.A.: Extracellular space of guinea-pig atrial tissue during metabolic inhibition and contracture.
Med.Pharmac.exp.,16,(1967):
89 - 94

16. LÜLLMANN,H. WEBER,R. und VAN ZWIETEN,P.A.: The correlation between the decline of the positiv inotropic effect and the loss of cardiac glycosides from isolated atria during wash-out.
Europ.J.Pharmac.6,(1969):
235 - 24o

17. LÜLLMANN,H. und VAN ZWIETEN,P.A.: The kinetic behavior of cardiac glycosides in vivo, measured by isotope techniques
J.Pharm.Pharmac.21,(1969):
1 - 8

18. PEACHEY,L D.: The sarcoplasmic reticulum and transverse tubules of the frog's sartorius. J.Cell.Biol.25,(1965): 2o9 - 231

19. POST,R.L. MERRIT,C.L. KINSOLVING,C.R. und ALBRIGHT,C.D.: Membrane adenosine triphosphatase as a participant in the active transport of sodium and potassium in the human erythrocyte. J.Biol.Chem.235,(196o): 1796 - 18o2

2o. REPKE,K. und PORTIUS,H.J.: Über die Identität der Ionenpumpen-ATPase in der Zellmembran des Herzmuskels mit einem Digitalisrezeptorenzym Experentia (Basel) 19,(1963): 452 - 458

21. RIGGS,D.S.: The mathematical approach to physiological problems.

22. SCHATZMANN,H.J.: Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium- und Natriumtransport durch die

Herrn Prof.Dr.RUMMEL danke ich dafür, daß er es mir ermöglicht hat, die Arbeit in seinem Institut durchzuführen, sowie für die wertvolle Unterstützung bei der kritischen Diskussion der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof.Dr.PFLEGER für die Überlassung des Themas sowie für die freundliche Anleitung und Beratung bei der Durchführung der Versuche und beim Abfassen der Arbeit.

Herrn Dipl.-Math.HEINRICH vom Institut für Biophysik der Universität des Saarlandes danke ich für die Erstellung und Durchführung des Rechenprogrammes.

Dem Sonderforschungsbereich 38 -Membranforschung- der Deutschen Forschungsgemeinschaft verdanke ich die Überlassung der Meßgeräte und Sachmittel.

Lebenslauf

Ich bin am 17. April 1944 als Tochter der Eheleute Kurt und Johanna Grün, geb. Goltz in Bromberg geboren.

Von 1950 bis 1955 besuchte ich die Volksschule in Berlin und Völklingen/Saar, von 1955 bis 1964 das Staatliche Mädchenrealgymnasium in Völklingen, wo ich im März 1964 die Reifeprüfung ablegte.

An der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin begann ich im Sommersemester 1964 mit dem Medizinstudium, das ich mit dem Staatsexamen am 9. Dezember 1969 an der Universität des Saarlandes beendete.

Vom 10.12.1969 bis 31.9.1970 war ich als Verwalter der Stelle eines wissenschaftlichen Assistenten am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität des Saarlandes angestellt. Während dieser Zeit führte ich die Arbeiten für eine Dissertation an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes durch.

Seit 1.10.1970 bin ich im Ev. Krankenhaus in 432 Hattingen auf der Abteilung für Chirurgie als Medizinalassistentin tätig.

Seit 19.12.1969 bin ich verheiratet.